

UNIVERSIDADE ESTADUALPAULISTA – UNESP

CAMPUS JABOTICABAL

**ATIVIDADE ECTOPARASITICIDA DE UMA NOVA FORMULAÇÃO
(BENZOILFENILUREIA + ORGANOFOFORADO) EM BOVINOS**

Isabela Hardt

Médica Veterinária

Especialista em Patologia Animal

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL

**ATIVIDADE ECTOPARASITICIDA DE UMA NOVA FORMULAÇÃO
(BENZOILFENILUREIA + ORGANOFOSFORADO) EM BOVINOS**

Discente: Isabela Hardt

Orientador: Prof. Dr. Alvimar José da
Costa

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp,
Campus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre em Medicina Veterinária com ênfase
em Patologia Animal

H266a Hardt, Isabela
Atividade ectoparasiticida de uma nova
formulação (benzoilfenilureia + organofosforado) em
bovinos / Isabela Hardt. -- Jaboticabal, 2018
49 f.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual
Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Alvimar José Costa

1. Ectoparasitas. 2. Farmacologia veterinária. 3.
Parasitologia veterinária. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.
Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,
Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

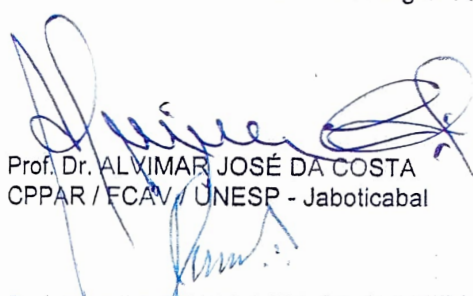
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ATIVIDADE ECTOPARASITICIDA DE UMA NOVA FORMULAÇÃO
(BENZOILFENILUREIA + ORGANOFOSFORADO) EM BOVINOS

AUTORA: ISABELA HARDT

ORIENTADOR: ALVIMAR JOSÉ DA COSTA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MEDICINA
VETERINÁRIA, área: Patologia Animal pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. ALVIMAR JOSÉ DA COSTA
CPPAR / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. GILSON PEREIRA DE OLIVEIRA
CPPAR / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Profa. Dra. KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI
Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - UNESP

Jaboticabal, 02 de outubro de 2018

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Isabela Hardt – nascida em 15 de junho de 1989, na cidade de São José dos Campos – SP. Graduiu em Medicina Veterinária em 2013 na Universidade Vila Velha – ES. Realizou residência em Patologia Animal, na mesma instituição (2014 – 2016). Durante este período trabalhou como *free lancer* de diagnóstico citopatológico para laboratórios da região. Em 2016 iniciou mestrado na Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Filho” *campus* Jaboticabal em Medicina Veterinária com ênfase em Patologia Animal, no Centro de Pesquisas em Sanidade Animal (CPPAR), com orientação do prof. Dr. Alvimar José da Costa. Onde este trabalho descrito aqui foi executado.

“Pouco conhecimento faz com que as pessoas se sintam orgulhosas. Muito conhecimento, que se sintam humildes. É assim que espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o céu, enquanto que as cheias baixam para a terra, sua mãe.”

Leonardo da Vinci

Dedico:

Aos animais.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por guiar, iluminar e abençoar meus caminhos e me conceder saúde, paz inteligência e discernimento para as escolhas da vida, e vencer as dificuldades até aqui apresentadas.

Ao prof. Dr. Alvimar José da Costa pela orientação, amizade, incentivo e pelas grandes oportunidades as quais me concedeu. Muitíssimo obrigada!

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pela concessão da bolsa de estudo, fundamental para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos pesquisadores, técnicos e funcionários do Centro de Pesquisas em Sanidade Animal (CPPAR), não só pelo apoio, ensinamentos e companheirismo, mas também pela amizade e risadas: Dr^a Carolina Buzulini, Dr. Gustavo Felippelli, Dr. Wilian Giquelin Maciel, Dr. Breno Cayeiro Cruz, Ms. Isabela Barbosa, Prof. Dr. Gilson Pereira de Oliveira, Elaine Fernandes.

Aos professores da FCAV – UNESP por aulas enriquecedoras.

À minha família pelo apoio, auxílio, paciência e sabedoria nos conselhos e orientações Rodolfo Hardt, Denise Maciel Ferreira, Ruth Albertoni Hardt, Heine Hardt e Luciene Hardt. E aos meus queridos tios Raul e Celi Ferreira, Estela e Ronaldo Machado.

E, por fim, aos meus amigos pela compreensão e companheirismo: Yhuri Cardoso Nóbrega, Renan Carvalho, Filipe Pires, Ygor Machado e Ítalo Mendes Lima. Aos meus vizinhos da república Curva de Rio, e às demais pessoas importantes da minha vida que me auxiliaram por este período. Sou imensamente sortuda por ter estas pessoas em minha vida.

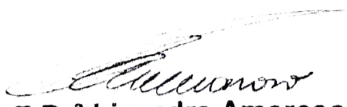
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado “**Eficácia da formulação 1510 PO no tratamento de bovinos naturalmente infestados por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***”, protocolo nº 01857/16, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Gilson Pereira de Oliveira, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL -SP, em reunião ordinária de 16 de fevereiro de 2016.

Vigência do Projeto	Início: 29/02/2016 - término: 12/03/2016
Espécie / Linhagem	bovina
Nº de animais	24
Peso / Idade	Peso variável; idade: 18-36 meses
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Fazenda a ser definida

Jaboticabal, 16 de fevereiro de 2016.


Profª Drª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "**Ação anti-ixodídica da formulação 1510 PO no tratamento de bovinos experimentalmente infestados por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***", protocolo nº 01856/16, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Gilson Pereira de Oliveira, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL - SP, em reunião ordinária de 16 de fevereiro de 2016.

Vigência do Projeto	Início: 29/02/2016 - término: 16/06/2016
Espécie / Linhagem	bovina
Nº de animais	14
Peso / Idade	Peso variável; idade: 08-10 meses
Sexo	Machos
Origem	CPPAR - Centro de Pesquisa em Sanidade Animal

Jaboticabal, 16 de fevereiro de 2016.


Profª Drª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

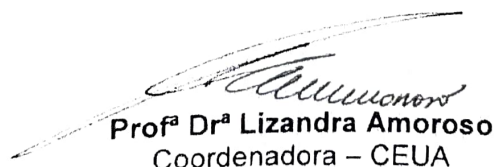
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado **"Eficácia mosquicida da formulação 1510, administrada via tópica (pour on), contra *Haematobia irritans* em bovinos naturalmente infestados"**, protocolo nº 1.862/16, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Gilson Pereira de Oliveira, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 03 de março de 2016.

Vigência do Projeto	29/02/2016 a 12/04/2016
Espécie / Linhagem	Bovina
Nº de animais	30
Peso / Idade	Peso variável; idade: 18 – 24 meses
Sexo	Machos e/ou fêmeas
Origem	Fazenda a ser definida

Jaboticabal, 03 de março de 2016.



Profª Drª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

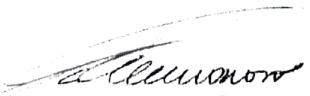
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "**Atividade anticuterebrídica da formulação 1510 PO no tratamento de bovinos naturalmente infestados por larvas de *Dermatobia hominis***", protocolo nº 01858/16, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Gilson Pereira de Oliveira, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL -SP, em reunião ordinária de 16 de fevereiro de 2016.

Vigência do Projeto	Início: 29/02/2016 - término: 30/04/2016
Espécie / Linhagem	bovina
Nº de animais	20
Peso / Idade	Peso variável; idade: 18-24 meses
Sexo	Machos e/ou fêmeas
Origem	Fazenda a ser definida

Jaboticabal, 16 de fevereiro de 2016.


Profª Drª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

SUMÁRIO		PG
1.	INTRODUÇÃO.....	01
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	06
2.1	<i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	06
2.2	<i>Haematobia irritans</i>	07
2.3	<i>Dermatobia hominis</i>	07
2.4	Benzoilfenilureia.....	08
2.5	Organofosforado.....	11
3.	OBJETIVOS.....	14
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	15
4.1.	Bovinos.....	15
4.2.	Experimento I: Eficácia carrapaticida em bovinos naturalmente infestados por <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	16
4.3.	Experimento II: Eficácia carrapaticida em bovinos experimentalmente infestados por <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	17
4.4.	Experimento III: Eficácia mosquicida em bovinos naturalmente infestados por <i>Haematobia irritans</i>	18
4.5.	Experimento IV: Eficácia bernicida em bovinos naturalmente infestados por <i>Dermatobia hominis</i>	19
4.6.	Análise estatística.....	20
5.	RESULTADOS.....	21
5.1.	Experimento I: Eficácia carrapaticida em bovinos naturalmente infestados por <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	21
5.2.	Experimento II: Eficácia carrapaticida em bovinos experimentalmente infestados por <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	23
5.3.	Experimento III: Eficácia mosquicida em bovinos naturalmente infestados por <i>Haematobia irritans</i>	26
5.4.	Experimento IV: Eficácia bernicida em bovinos naturalmente infestados por <i>Dermatobia hominis</i>	28
6.	DISCUSSÃO.....	30
7.	CONCLUSÃO.....	34
8.	BIBLIOGRAFIA.....	35

ATIVIDADE ECTOPARASITICIDA DE UMA NOVA FORMULAÇÃO (BENZOILFENILUREIA + ORGANOFOSFORADO) EM BOVINOS

RESUMO _ Os ectoparasitos de bovinos, sobretudo *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Dermatobia hominis* e *Haematobia irritans* constituem grande entrave à produtividade. O controle de tais ectoparasitos baseia-se, principalmente, no uso de quimioterápicos, cuja frequência e administração incorretas levaram ao surgimento de resistência a muitos princípios ativos. A pesquisa de novas alternativas quimioterápicas torna-se premente, razão pela qual, avaliou-se, neste trabalho, uma formulação inédita, contendo benzoilfenilureia + organofosforado. Os quatro estudos clínicos realizados possibilitaram avaliar a eficácia desta associação contra os três ectoparasitos supracitados. No carrapato, foram realizados dois estudos (infestação natural e artificial). O índice de eficácia anti-ixodídica em animais infestados naturalmente foi superior a 90% do 7º ao 28º DPT (Dia pós-tratamento). Nas infestações artificiais foi utilizado o Fluazuron 2,5%, além da nova formulação (benzoilfenilureia + organofosforado), como parâmetro comparativo. O índice máximo de eficácia (100%) foi alcançado do 20º ao 47º DPT. Resultados semelhantes foram obtidos, pela formulação Fluazuron 2,5%. As eficácias terapêutica e residual da nova formulação contra *Haematobia irritans* (infestação natural) se manteve superior a 90% do 1º ao 14º DPT, alcançando índice mosquicida máximo (99,96%) no 1º DPT. Sobre larvas de *Dermatobia hominis*, a formulação inédita demonstrou efetividade superior a 90% do 7º ao 21º DPT. Em síntese, os resultados obtidos nos quatro estudos realizados, possibilitaram recomendar a referida formulação, inédita mundialmente, na dose e via empregadas, no tratamento e controle das principais ectoparasitoses de bovinos.

Palavras chave: Benzoilfenilureia, bovinos, ectoparasitos, organofosforado.

ECTOPARASITICIDE ACTIVITY OF A NEW FORMULATION (BENZOYLPHENYLUREA + ORGANOPHOSPHORADE) IN CATTLE

ABSTRACT _ Cattle's ectoparasites constitute a considerable productivity obstacle, especially *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Dermatobia hominis* and *Haematobia irritans*. The control of those ectoparasites is based mainly on the use of chemotherapeutics, whose frequency and incorrect administration have led to resistance of many active principles. The research of new chemotherapeutic alternatives became urgent, reason why, in this work, an unprecedented formulation containing benzoylphenyl urea + organophosphorade was evaluated. The four clinical studies made it possible to evaluate the efficacy of this combination against the three ectoparasites mentioned above. In the tick, two studies (natural and artificial infestations) were performed. The anti-ixodide efficacy index in naturally infested animals was greater than 90% from 7th to the 28th DPT (Post-Day Treatment). In the artificial infestations, Fluazuron 2.5% formulation was used as a comparative parameter to the new formulation (benzoylphenyl urea + organophosphate). The maximum efficacy index (100%) was reached from the 20th to the 47th DPT. Similar results were obtained by Fluazuron 2.5% formulation. The new formulation therapeutic and residual efficacies against *Haematobia irritans* (natural infestation) remained higher than 90% from the 1st DPT to the 14th DP, reaching a maximum index (99.96%) in the 1st DPT. Regarding larvae of *Dermatobia hominis*, the new formulation showed an effectiveness greater than 90% from the 7th to the 21st DPT. In summary, the results obtained in the four studies, made it possible to recommend this formulation, unprecedented worldwide, in the dose and via administered, in the treatment and control of the main ectoparasitoses of cattle.

Key words: Benzoylphenylurea, Bovine, ectoparasite, organophosphorade.

1.INTRODUÇÃO

O Brasil tem como base econômica o agronegócio que, além de gerar empregos, auxilia a liquidação dos déficits do tesouro nacional e fornece alimento saudável e de qualidade para toda a população mundial (Buainain et al., 2016). No que se refere à pecuária, é o maior exportador de carne bovina do mundo, isoladamente exporta quase 20% da carne do comércio externo (Beeff2live, 2017). Em 2016, exportou 100 mil toneladas de carne *in natura* o que rendeu o lucro de 398 milhões de dólares à receita federal (ABIEC, 2016). No mesmo ano, a produção de leite foi superior a 5 bilhões de litros, registrados sob fiscalização da inspeção sanitária (IBGE, 2016), consolidando-o como 5º maior produtor mundial (CONAB, 2016) com expectativa de aumento da produção para 2017 (FAO, 2016). Além disso, se faz importante ressaltar que há uma renda significativa de outras categorias de subprodutos (ABIEC, 2016), como o couro, o qual em 2015 teve uma produção superior a 8,64 milhões de peças integras (IBGE, 2016).

O sucesso da pecuária no país está relacionado a medidas que permitam uma produção mais eficiente, tendo como base a genética do animal, nutrição, manejo e condições sanitárias em que são submetidos. A sanidade animal é um fator de suma importância que além de estar diretamente ligada a produtividade animal, pode limitar ou restringir o acesso a mercados internos e externos, e dessa forma, prejudicar diretamente a macroeconomia da pecuária, e conseqüentemente de todo o país. Ademais, há enfermidades que têm grande impacto na saúde pública e os tratamentos utilizados para algumas doenças, além de gerarem imensos gastos, podem deixar resíduos impedindo o consumo (Nogueira e Tonini, 2010).

Dentre os problemas sanitários que levam as perdas do animal por completo e/ou desvalorização da carcaça dos bovinos, no Brasil, destacam-se as parasitoses. Se por um lado o clima, expansão territorial, quantidade de pastos são boas para o agronegócio, por outro lado, aumenta a disseminação e facilita a reprodução de parasitos, isto porque, a atividade agropecuária, responsável pela ocupação de 41,67% do território brasileiro (IBGE 2006; IBGE 2013) é considerada a principal causa de desmatamento do país (Margulis, 2003). O desmatamento florestal, em seu contrassenso, gera um desequilíbrio da fauna e alterações climáticas que propiciam

elevação considerável das doenças vetoriais por ampliação geográfica de artrópodes (Walsh et al., 1993; Norris, 2004). Nos trópicos, o estabelecimento e desenvolvimento de ectoparasitoses são facilitados pelo seu clima quente e úmido (Silva et al., 2002). Somados a isso, a relação entre hospedeiro e parasito que evoluiu ao longo de milhões de anos, foi desequilibrada pelo homem por meio das práticas de domesticação e agricultura (Sargison, 2011).

Outro fator coligado a facilitação das ectoparasitoses é a genética introduzida no rebanho brasileiro para aumentar a produção. Propagaram-se cruzamentos industriais com raças europeias (*Bos taurus*) que são animais com alto potencial produtivo, porém, menor resistência a ectoparasitos quando comparado aos zebuínos (*Bos indicus*). Ainda, a intensificação do rebanho aumentou a taxa de lotação de animais por hectare que é também um grande facilitador a disseminação de parasitos entre animais (Lopes et al., 2017).

As doenças induzidas por ectoparasitos ou o meio com o qual os artrópodes parasitários afetam a saúde animal incluem a perda de sangue resultando em anemia, lesão física da pele e aos couros, reações alérgicas aos venenos e toxinas, resistência diminuída a outras doenças, transmissão de outras enfermidades como vetor e redução de ganho de peso e produção de leite (Blagburn e Lindsay, 2010). Economicamente, estima-se que os parasitos gerem um déficit de 13,96 bilhões de dólares anuais para o país, considerando a população de gado (212.797.824 cabeças). Os principais ectoparasitos do país (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Haematobia irritans*, *Dermatobia hominis*, *Cochiliomyia hominivorax* e *Stomoxys calcitrans*) e endoparasitas; diminuição da produção (redução da conversão alimentar para leite e carne), tratamento, medidas de controle e pesquisa de novas moléculas. Entretanto, não estão inclusos os gastos referentes aos surtos, às doenças em que estes animais atuam como vetores, ou outras enfermidades que facilitam a entrada, nem no que diz respeito à saúde pública.

A magnitude dessa cotação deixa bem evidenciado o quanto são necessárias precauções constantes sobre tal situação no Brasil. *R. (B.) microplus* ocupa a segunda posição em termos de gastos, perdendo apenas para a soma de todos os endoparasitas do país (Grisi et al., 2014). A infestação de carrapatos nos bovinos gera perdas de 90 litros de leite por animal em cada lactação (Rodrigues e Leite, 2013) e o

bovino emagrece em média 1,18mg a 1,37mg por carrapato parasitado (Jonson, 2006). Esses fatos levaram a estimativa de que se gasta por ano 2.558,32 bilhões de dólares apenas com o *R. (B.) microplus*. Os outros ectoparasitos mais importantes para a pecuária, *H. irritans* (mosca-dos-chifres) e *D. hominis* (berne), também ocupam valores significativos. A estimativa de perda anual relacionada à infestação por mosca-dos-chifres está em torno de 2.558,32 bilhões de dólares anuais e a média de perda de peso por animal infestado é de 3kg nos adultos e 2kg nos jovens (Grisi et al., 2014). No que se refere ao berne, cada larva infestada tem a capacidade de diminuir 40,6g do ganho de peso (Magalhães e Lesskiu, 1982) e estima-se um gasto de 383,48 milhões de dólares anuais (Grisi et al., 2014).

Por mais que controles biológicos e vacinas sejam considerados estratégias viáveis contra parasitos, continuam em fase experimental. A quimioterapia, no presente, constitui-se, ainda da forma mais efetiva de se combater ectoparasitos (Sakamoto et al., 2013). Existem diversos grupos heterogêneos de agentes classificados com base em sua química ou mecanismo de ação, basicamente são derivados de molécula vegetais ou sintéticos. As principais substâncias derivadas de vegetais são as piretrinas, limoneno, linalool e a rotenona. Os principais sintéticos são os piretróides sintéticos, hidrocarbonetos organofosforados, carbamatos, formidinas e os compostos diversos que compreendem substâncias inorgânicas, os reguladores de crescimento e inibidores do desenvolvimento e as lactonas macrolíticas, dentre outros (Blagburne Lindsay, 2010).

Mesmo com uma grande quantidade de moléculas disponíveis o uso indiscriminado levou à seleção de microrganismos resistentes, atualmente, encontrados em todos os rebanhos (Lopes et al., 2017). Não somente este fator contribuiu para a resistência de insetos e outros artrópodes contra fármacos, mas, tais organismos possuem características intrínsecas que incluem medidas comportamentais e fisiológicas que geram assimilação reduzida sob o organismo alvo com metabolização (detoxificação) do princípio ativo. Estas características de fuga inerentes ao parasito estão relacionadas à seleção genética por meio do aumento da atividade de enzimas, mudança dos canais de sódio axonais e genes específicos ativados (Blagburn e Lindsay, et al., 2010). As populações de parasitos que conseguem sobreviver à exposição a um princípio ativo irão gerar proles e consequentemente propagar resistência (Lopes et al., 2017).

Com a globalização houve um aumento de intercâmbio entre espécies. A aquisição de animais proveniente de outras propriedades, veículos e transportes via homem, facilitam a disseminação de parasitos com genética resistente até uma região isenta de exposição para a determinada molécula, o que gera uma maior propagação da resistência à antiparasitários (Kunz e Kemp, 1994).

A capacidade de insetos e outros artrópodes de resistir aos efeitos letais dos fármacos após a exposição contínua foi reconhecida há quase um século, e independente da causa, nas últimas décadas, tem sido o maior problema técnico dos programas de controle da agricultura, pecuária e saúde pública (Shidraw, 1990). O aparecimento da tolerância ao princípio ativo surge cronologicamente ao seu uso (Lopes et al., 2017). Estratégias para combater a constante aquisição de resistência dos ectoparasitos aos fármacos incluem: seleção apropriada de inseticidas, redução do número de tratamentos, o uso de rotação de praguicidas, novas moléculas ou a formulação de moléculas que já existem (Blagburn e Lindsay, 2010). Essas medidas asseguram uma menor exposição do fármaco ao agente, e desta forma diminui a possibilidade de ganho de resistência à droga. A descoberta de novos princípios tem sido bastante encorajada, porém, é importante tomar todas as medidas necessárias para preservar a vida útil dos agentes atuais contra ectoparasitos (Kunz e Kemp, 1994). Neste contexto, surge a necessidade de pesquisas que busquem novas moléculas (Lopes et al., 2017). Para isso, são necessárias pesquisas para o desenvolvimento de fármacos seguros para a saúde humana e animal e os tratamentos utilizados não devem prejudicar o produto final.

A secretária de Defesa Animal (SDA) confeccionou um manual técnico a ser seguido para a execução dos estudos antiparasitários. Este deu origem a Portaria 48, publicada 12 de maio de 1997, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil, 1997). Neste documento delinearam-se os passos e os experimentos que devem ser utilizados como metodologias para verificar a viabilidade de novos produtos. Somados a isso, as metodologias, devem seguir a Lei Auroca nº 11.794 de 08 de Outubro de 2008, que prevê o manejo humanitário e científico dos animais, embasado no CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal) (Brasil 2008). Deve-se acrescentar, ainda, que os requerimentos técnicos para registros de novos produtos veterinários, em âmbito internacional, que são normatizados pelo Guia de Boas Práticas Clínicas Veterinárias da VICH (*International*

Cooperation on Harmonisation of technical Requirements for Registration for Veterinary Medicinal Products) (VICH, 2017). Além destas premissas, deve haver avaliação e aprovação de uma Comissão de ética no Uso de Animais.

Por conseguinte, propõe-se avaliar uma nova formulação, inédita, contendo benzoilfenilureia e organofosforado com mecanismos de ação diferentes que atuarão sob os ectoparasitos mais importantes do país: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Haematobia irritans* e *Dermatobia hominis*. Esta associação é uma escolha de praticidade onde haverá um tratamento concomitante contra moscas e carrapatos, haja vista que parasitoses nos bovinos a campo ocorrem frequentemente de forma simultânea (Costa et al., 2014). Para tal, serão realizados experimentos de acordo com as normas e leis vigentes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

R. (B.) microplus é um aracnídeo pertencente ao filo Artropoda, ordem Acari, subordem Ixodidae. Considerado o parasita de maior importância para a pecuária mundial, encontrado em todo globo e endêmico na Índia, Austrália, Madagascar, Sul da África, Caribe, México e toda América Central e do Sul. Tem a capacidade de parasitar bovinos, bubalinos, equinos, asininos, caprinos, ovinos, suínos, caninos e alguns animais selvagens. Pode atuar como vetor dos protozoários *Babesia bigemina*, *Babesia bovis*, *Anaplasma marginale* e *Babesia equi* dentre outros (CFSPH, 2007).

Seu ciclo biológico é constituído de uma fase de vida livre e outra parasitária (Gonzales et al., 1993), exigindo um único hospedeiro (monóxeno) para sua evolução, no qual realiza todas as ecdises, passando por todos os estádios em três semanas, mais duas semanas no ambiente antes de eclodir, ou até meses ao solo, a depender do clima (Taylor, Coop e Wall, 2010). É importante ressaltar, ainda, que a maioria da população permanece no ambiente e não no animal, dessa forma, um animal infestado ao ser introduzido em uma propriedade, rapidamente irá disseminar a infestação para todo o rebanho (CFSPH, 2007).

Ao nascimento, as larvas são morosas, levando em média sete dias para ascender à vegetação e alcançar seu hospedeiro. Quando o bovino, por exemplo, roça a vegetação, as larvas já ávidas fixam-se às regiões de pele mais tenras (períneo, região inguinal e barbela) onde se nutrem de linfa até desenvolverem-se em metalarva. E seguida, realizam ecdise, originando ninfas e metaninfas. A próxima ecdise dará origem aos adultos, sendo que os de menor tamanho serão machos (neandros e gonandros) e os maiores fêmeas (neóginas, partenóginas e teleóginas). Quando adultos, os machos são encontrados, de forma geral, sobre as fêmeas (neóginas), que após serem fertilizadas (parternóginas) ingurgitam-se completamente e alcançam o estágio de teleóginas, desprendem-se do hospedeiro e caem ao solo. Cada fêmea põe dois a três mil ovos dado no término de seu ciclo de

aproximadamente quatro semana, terminando com a morte da fêmea (quenógina) (Flechtman, 1977; Klompen, 2005).

2.2 *Haematobia irritans*

H. Irritans (mosca dos chifres) é um díptero hematófago que foi notificado pela primeira vez no Brasil em Roraima. Tem preferência parasitária por bovinos, de preferência linhagem europeia (ou mestiços), sobretudo machos inteiros, e se encontra em maior quantidade em áreas de pelagem escura graças à maior concentração de glândulas sebáceas e liberação de testosterona que esta característica confere (Christensen et al., 1979).

O desenvolvimento dos descendentes até a fase adulta requer uma temperatura de 24°C a 26°C e por isso as fases de maior infestação são de agosto a abril (Barros, 2002). Após vinte e quatro horas uma fêmea pode botar até 400 ovos. O ciclo biológico desta mosca inclui a permanência dos adultos sobre os hospedeiros por tempo integral, só deixando o hospedeiro para depositar os ovos parcelados nas bordas das massas fecais recém-depositadas ao solo (Palmer e Bay, 1981; Jones e Kunz, 1996), ou em períodos chuvosos. Sua permanência provoca grande incômodo, sendo que o emagrecimento está relacionado principalmente ao desconforto em que o animal é submetido, os animais por vezes deixam de comer e dormir para tentar se livrar do parasita esfregando seu corpo em estruturas da propriedade e árvores (Gomes et al., 1988). Além deste enorme prejuízo, o excesso de picadas de *H. irritans*, danifica o couro e pode facilitar a invasão de outros parasitos como a *Cochilomyia hominivorax*, tornando-o inaproveitável para a indústria couro-calçadista (Oliveira, 1983).

2.3 *Dermatobia hominis*

D. hominis (Díptera, Cuterebridae), conhecida popularmente como mosca do berne, é o quarto ectoparasito mais importante para a pecuária brasileira (Grissi et al., 2014). É considerado o integrante mais importante da família Oestridae (Zumpt, 1965) devido a vasta amplitude de hospedeiros que pode parasitar e a pouca seletividade de vetores intermediários que disseminam os ovos.

Possui um ciclo biológico complexo, passando por uma fase de vida livre, onde, larva e pupa vivem no solo e adultos, preferencialmente, em ambientes de morro ou florestais. As fêmeas de *D. hominis* já acasaladas capturam insetos foréticos para transportarem seus ovos, depositam em média 12 ovos no abdômen de moscas ou mosquitos para a dispersão de seus ovos no hospedeiro. A fase subsequente corresponde à fase parasitária, quando depositados, os ovos eclodem em resposta a sensibilidade térmica do contato com hospedeiro, então as larvas de primeiro estágio penetram na pele do indivíduo sem a necessidade de lesões prévias. As larvas se desenvolvem no subcutâneo do hospedeiro produzindo lesões furunculosas (Guimarães, Papavero e Prado, 1983; Hall e Wall, 1995). Esta lesão pela forma larvar é denominada miíase furunculosa ou dermatobiose, condição de importância médica e médica veterinária em toda a América latina (Pinto et al., 2002), distribuindo-se, também, desde o Sul do México até o norte da Argentina (Grisi et al., 2014).

Após cinco a dez semanas, larvas de terceiro estágio saem pelo orifício respiratório que criaram na pele, e viram pulpa no solo até eclodirem para mosca, finalizando o ciclo completo entre três a quatro meses (O'Donel, 1984). Cada larva infestada tem a capacidade de diminuir 40,6g do ganho de peso de um bovino (Magalhães e Lessiku, 1982).

Tem como predileção de hospedeiro a espécie bovina (Hall e Wall, 1995) e neles este berne pode facilitar a infecção concomitante por *Pasteurella granulomatis* (Lechiguana) que causa desde emagrecimento progressivo até a morte (Ladeira et al., 1996). *D. hominis* é o agente mais comum em miíases cutâneas de humanos (O'Donel, 1984) e também pode parasitar cães, aves, dentre outros animais domésticos e selvagens de sangue quente. Esta característica de grande diversidade de hospedeiros alternativos e o envolvimento de diversas espécies de insetos como vetores foréticos (dos ovos) dificulta o controle da dermatobiose (Bishop et al., 2000).

2.4 Benzoilfenilureia

Enquanto que a maioria dos acaricidas atua no sistema nervoso, uma nova categoria de substâncias que agem por outra via tem emergido no mercado. Este é o caso dos reguladores de crescimento dos artrópodes (Coop et al., 2002). Esta classe

de antiparasitários pode ser dividida em três categorias: análogos de hormônios juvenis, inibidores de síntese de quitina e derivados do composto orgânico Triazina. Estes atuam interferindo a pulpação e evolução dos insetos (Graaf, 1993; Chavassee e Yap, 1997). Benzoilfenilureia é a molécula base que forma uma classe de inseticidas o qual se insere nos reguladores de crescimento dos artrópodes, esta atua no metabolismo de quitina de organismos alvo (Van Eck, 1979).

Entre 1968-1970, um cientista alemão descobriu a atividade inseticida do benzoilfenilureia. O curso desta investigação centrou-se no herbicida 1-(2,6-dichlorobenzoyl) estrutura básica em que o composto foi combinado com ureia e o herbicida diuron 3-(3,4-dichlorophenyl)urea. Assim, o primeiro composto foi a combinação dessas duas moléculas, batizado de DU 19111. Nesta época, não se descobriu suas funções, também herbicidas e fitotóxicas, foi apenas observado que as larvas de diversos insetos demonstravam sinais anormais ao ingerirem o composto, a ecdise era comprometida e os insetos ficavam enegrecidos e morriam. Após análises histopatológicas verificou-se que a formação da cutícula estava comprometida, dessa forma, levantou-se a suspeita do mecanismo de ação sobre a biossíntese da cutícula (Willems et al., 1986). A ação inseticida do DU 1911 contra estádios de diversos insetos levou a síntese de centenas de benzoilfenilureas: dimilin® (diflubenzuron – Dufar), Alsystin® (triflumuron – Bayer) (Lacey e Sulla, 1978; Schaefer et al., 1978), XRD-473 (Dow)(Sbragia et al., 1983), IKI-7899ou CGA112913 (Clorfluazuron – Ishihara/Ciba-Geigy) (GRANETT et al., 1983), Celamerck (Becher et al., 1985), Acatak (fluazuron – Novartis Saúde Animal (Kemp et al., 1990).

De acordo com Nagakawa et al (1984) a atividade inseticida de benzoilfenilureas depende da substituição do padrão do anel de benzoil, outra diferença entre os compostos mais recentemente introduzidos e os antigos são que a porção anilina do 3,5 dicloro foi substituída, fazendo com que o composto seja mais lipofílico. A menor solubilidade presumivelmente o faz mais persistente que os compostos antigos (Nakagawa et al., 1984). Este componente ativo atua inibindo a síntese de quitina provavelmente através da inibição de enzimas específica envolvidas no processo de ecdise de artrópodes (Kemp et al., 1990).

A quitina é um biopolímero amino-açúcar, que unida a outras proteínas elaboram as estruturas de sustentação e barreiras mecânicas dos insetos. Compara-

se com a celulose e o colágeno nas plantas e mamíferos, respectivamente (Cohen, 1986). A formação do polímero de quitina e sua cristalização em microfibrilas são parte de um complexo processo bioquímico e estes eventos são pobremente conhecidos nos artrópodes (Gooday e Trinci, 1980). O que se faz conhecido, é que a polimerização da quitina é um dos últimos eventos celulares que começam a partir de glicose ou tetralose, passando por uma cascata bioquímica que incluem fosforilação, aminação, acetilação e formação de UPD-N-acetil-D-glicosamina como substrato final. Como este metabólito pode ser originado de diversas vias metabólicas, considera-se que a síntese de quitina reside na manutenção por uma enzima (quitina sintetase) embebida na membrana plasmática de células epidermais (Cohen, 1986). A quitina sintetase catalisa a polimerização de UPD-N-acetil-Dglicosamina em N-acetil-d-glicosamina e finalmente em quitina (Cohen e Cassida 1980; Mayer et al., 1980; Cohen e Cassida 1983).

Estudos bioquímicos focando o mecanismo de ação verificaram que a interferência não se dá diretamente sobre a quitina (Grosscurt, 1978; Grosscurt e Andersen 1980; Hunter e Vicent, 1974), mas sim por alguma modificação enzimática, provavelmente no transporte de polimerização da N-acetilglicosamina para quitina (Cohen e Cassida, 1980; Cohen e Cassida 1983; Maya et al., 1980; Mitsui et al., 1984), reação que deve ocorrer na membrana plasmática celular (Mitsui e al., 1984). Outra alternativa de mecanismo pode ser a alteração de precursores de quitina, apesar de não se conhecer o mecanismo preciso, a primeira teoria (enzimática) é mais aceita e considera-se que esta reação tem efeito rápido, quando ao ser ingerida pelo microrganismo alvo. Devido à complexidade de eventos que ocorre antecedendo a formação da quitina, a ação exata pode encontrar-se em diversos sítios de ação das vias metabólicas (Willems et al., 1986).

Nos artrópodes, o fluido de muda contém proteases e quitinases que digerem a endocutícula velha cujos componentes são reciclados. A formação da nova cutícula começa com a abertura do espaço de ecdise devido a secreção de proteínas da cutícula e fibras de quitina pelas membranas apicais das células epidermais. Dessa forma, há uma formação de uma nova cutícula quitinosa não esclerotizada, a procutícula e da epicutícula externa. A última fecha a epiderme e a protege contra enzimas digestivas do fluido da muda. Por fim, a ecdise se completa quando há eliminação do farrapo do antigo invólucro, neste momento, o invertebrado se expande

antes de enrijecer da nova cutícula por esclerotização (Champman, 1982; Merzendorfer e Zimoch, 2003).

No *R. (B) microplus*, a quitina está presente não só na cutícula (responsável por proteção mecânica e manutenção da permeabilidade) (Splinder, 1990), o mesmo material é responsável pelo invólucro dos ovos (Taylor, 2001) e também é encontrado na membrana periotrófica do intestino, que atua como barreira entre a digestão do bolo intestinal e os constituintes internos (You et al., 2003). Portanto, a interferência com o metabolismo da quitina leva a limitação da metamorfose e ecdise interrompendo o ciclo do parasito (Splinder, 1990), não há formação de descendentes viáveis (Taylor, 2001) e o expõe a autodigestão (You et al., 2003). Considera-se que a letalidade dos microrganismos alvo se dá por desidratação devido à alteração da cutícula e consequentemente perda de hemolinfa (Retnakaram e Whight, 1987; Graf 1993; Bull et al., 1996).

Suas vantagens como princípio ativo são que seus componentes necessitam de baixas concentrações, o efeito residual longo e potente (Hink et al., 1991; Henderson e Foil, 1993), e têm alta especificidade e baixa toxicidade a mamíferos (Splinder, 1990). Outra característica bastante desejável se dá por ser um princípio ativo de rápida degradação em solo, e por isso, ambientalmente segura. Estudos mostram que habilidade de degradação da molécula no solo é independente das características do ambiente, mas sim do tamanho da molécula, nos poucos estudos disponíveis considera-se que o benzoilfenilurea tem uma vida útil de 2 a 3 meses e seu produto final de degradação é gás carbônico e água (Nimmo et al., 1984; Nimmo et al., 1985).

2.5 Organofosforados

Organofosforados englobam um grupo de diversas substâncias químicas com propriedades inseticidas, acaricidas, helminticidas, herbicidas e fungicidas (Blagbum e Lindsay, 2010). São um componente essencial do arsenal pesticida desde a década de 70 (Grube et al., 2011), porém, no início de 2000, alguns usos foram banidos para averiguar riscos em relação à resíduos alimentícios, ao meio ambiente e outros seres vivos (aves, peixes e vida marinha) (EPA, 2001).

Seu mecanismo de ação se dá pelo princípio químico ligar-se e inibir, através de uma catalização, colinesterases, principalmente a acetilcolinesterase, enzima amplamente distribuída nos sistemas colinérgicos dos nervos centrais e periféricos, músculos e compostos do sangue (Santos et al., 2010).

Quando um impulso nervoso é gerado, ele move-se em direção a um neurônio parassimpático até a porção final de um nervo, lá, a acetilcolina está armazenada em vesículas nas junções neuromusculares. A liberação da acetilcolina leva em geral 2 a 3 milissegundos para ser liberada. A acetilcolina interage, então, com a membrana pós-sináptica levando a estimulação da fibra nervosa, e assim realizando suas funções fisiológicas normais, dado determinado estímulo demandado pela homeostase da necessidade do momento.

Acetilcolinesterase é responsável por degradar, por meio de hidrólise, o agente neurotransmissor: acetilcolina. Esta degradação (hidrolisação) tem como produto final ácido acético + colina. A hidrólise é necessária para que haja um controle nos receptores, inibindo o estímulo inicial, e dessa forma não haverá uma hiperestimulação nas membranas pós sinápticas (Vital e Acco, 2006).

A ligação do organofosforado com a acetilcolinesterase resulta em uma transfosforilação da enzima que tem como consequência a não hidrolisação da acetilcolina, o excesso deste produto nas regiões pós sinápticas irá gerar exaustão ou tetania no sítio de ação levando a letalidade dos organismos alvo (Fukuto, 1990).

É um potente inseticida que passou por diversas avaliações de pesquisas, onde se tomaram medidas preventivas, como a diminuição da concentração do princípio ativo, passando assim, a ser liberado via *pour on* ou etiquetas auriculares (EPA, 2001). São derivados dos ácidos fosfóricos tiofosforados, tionofosfórico, irofosfórico e ditiofosfórico, de acordo com sua estrutura química podem ser subdivididos em fosforados, tiofosforados e clorofosforados, absorvidos por todas as vias possíveis, mas preferencialmente a dérmica (Larini, 1987). Os organofosforados mais utilizados como antiparasitários são: metaminofós, dimixion, fenitroton, fenthion, fosfomet, triclorfon, clorfenvinfos, clorpirifós, ethion e diazinon (Osweileir, 1998).

Em síntese, os prejuízos econômicos e físicos, decorrentes das infestações e infecções por parasitos podem ser minimizados com o controle químico de fármacos

já existentes no mercado. Considerando que, o custo com o desenvolvimento de novas moléculas é elevado, justifica-se a escolha deste estudo o qual, por meio de alternativa mais viável para minimizar as principais ectoparasitoses do país, associa-se princípios ativos existentes em uma única formulação química, inédita, avaliando sua segurança clínica e inocuidade e avaliando sua satisfatória eficácia terapêutica (Taylor, 2001) exigida pelas regulamentações do país (Brasil, 1997; Brasil 2008; VICH 2017).

3. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo investigar uma nova alternativa terapêutica conjunta da associação benzoilfenilurea e organofosforado contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Haematobia irritans*, *Dermatobia hominis*, ectoparasitas de bovinos.

4. MATERIAL E METODOS

Foram conduzidos quatro experimentos objetivando determinar as eficácias terapêutica e residual contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (condições naturais e experimentalmente infestados – I e II), naturalmente infestados por *Haematobia irritans* (III) e por larvas de *Dermatobia hominis* (IV).

Faz-se necessário ressaltar que anteriormente à execução destes estudos foram realizados experimentos para avaliar a estabilidade das moléculas, e a segurança clínica e inocuidade para bovinos frente à nova formulação. Estas pesquisas não adentraram ao corpo desta dissertação, mas todos os resultados obtidos foram compatíveis com o prosseguimento dos estudos aqui realizados. A formulação (benzoilfenilurea associado a organofosforado) foi fabricada e fornecida pelo laboratório Biovet S/A, sendo administrada via tópica (*pour on*), na região dorso-lombar, na dose única de 1 mL/10kg de peso corporal.

Todos os estudos propostos seguiram os padrões estabelecidos pelas diretrizes, normas e regulamentos que regem a liberação de antiparasitários no país - CEUA da FCAV (Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias) da UNESP (Universidade Estadual Paulista – Campus Júlio Mesquita Filho) de Jaboticabal, São Paulo.

4.1 Bovinos

Foram selecionados 88 bovinos mestiços (zebuínos x taurinos) isentos de tratamentos acaricidas e endectocidas nos últimos 120 dias com vacinação para as principais enfermidades (raiva, febre aftosa, tétano) em dia. Os estudos sobre eficácia em animais naturalmente e artificialmente infestados tiveram critérios específicos detalhados a seguir em cada item.

Os bovinos que se adequaram aos critérios foram realocados em baias ou piquetes ou pastos destinados, e lá permaneceram em observação e adaptação por um período mínimo de duas semanas antes de começarem as pesquisas. Os bovinos foram pesados para o cálculo preciso dos volumes da nova formulação do grupo

tratado (benzoilfenilurea associado à organofosforado) e para o controle (veículo). Durante todo o período experimental, os bovinos foram mantidos em piquetes separados formados com a forrageira cultivada na propriedade, água e sal mineral foram fornecidos *ad libitum*. Com o término do estudo, os animais permaneceram na propriedade de origem em observação por mais 180 dias.

4.2 Experimento I: Eficácia carrapaticida em bovinos naturalmente infestados por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Este estudo clínico foi realizado na Fazenda 2P, localizada no município de São Carlos, estado de São Paulo, Brasil. Foram utilizados 20 bovinos machos, mestiços (zebuínos x taurinos), com idade entre 18 e 36 meses. Para a avaliação de eficácia carrapaticida a campo, os bovinos apresentavam infestação natural de no mínimo 20 parternóginas, no lado esquerdo (Brasil, 1997). O número do protocolo de aprovação do comitê de ética no uso de animais, referente a este estudo, é de 1857/16.

Os animais selecionados foram separados do rebanho e contagens de carrapatos foram realizadas durante a fase de adaptação. Tendo por parâmetro o comprimento de 4,5 a 8,0mm dos carrapatos, presentes no lado esquerdo de cada bovino, foram obtidas médias de três contagens consecutivas de parternóginas. Estas medidas constituíram parâmetro para grupos experimentais com 10 bovinos cada: um tratado com a nova formulação (benzoilfenilurea + organofosforado) e o outro com o veículo da formulação (controle).

No dia experimental (D0), os bovinos receberam, individualmente, as respectivas soluções destinadas a cada grupo. Em seguida, os animais foram observados durante 60 minutos para detecção de eventuais alterações clínicas decorrentes da aplicação.

No 3º, 7º e semanalmente, após os tratamentos, foram quantificadas todas as parternóginas (4,5 mm e 8,0 mm), até o final do experimento (eficácia inferior a 80%). Estas quantificações foram utilizadas para calcular os percentuais de eficácia terapêutica e residual da formulação experimental. Para isto, utilizou-se a fórmula preconizada pelo MAPA, Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA), Portaria n.º 48, 12/05/1997:

$$\text{Percentual de eficácia} = \left[1 - \frac{Ta \times Cb}{Tb \times Ca} \right] \times 100$$

Em que:

Ta = número de parternóginas contadas dos animais tratados após a medicação;

Tb = número médio de parternóginas contadas dos animais tratados nos três primeiros dias anteriores ao tratamento;

Ca = número de parternóginas contadas dos animais controle no período após início do experimento;

Cb = número médio de parternóginas contadas dos animais controle nos três dias anteriores ao tratamento.

4.3 Experimento II: Eficácia carrapaticida em bovinos experimentalmente infestados por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Stall test)

Todas as etapas do estudo foram realizadas na Fazenda Bananal, pertencente ao IPESA – Instituto de Pesquisas em Sanidade Animal, localizada no distrito Segredo, Formiga, MG, onde havia animais disponíveis (critérios clínicos) e infraestrutura necessária para implantar o estudo. O número do protocolo de aprovação do comitê de ética no uso de animais, referente a este estudo, é de 1856/16.

Foram utilizados 18 bovinos mestiços, machos, entre oito e dez meses de idade, que se enquadravam nos critérios de seleção. Os animais selecionados foram encaminhados a baias específicas, onde havia uma elevação do piso, e uma área de escoamento com uma peneira capaz de reter teleóginas quando o recinto fosse lavado.

Os bovinos experimentais ficaram cinco semanas em adaptação e aclimação antes de iniciar o experimento. Na primeira semana, foram desverminados, via subcutânea, com fosfato de levamisol, 1 mL/40kg de peso corporal. Antes das infestações foram lavados com sabão neutro. Após 24h, os bovinos foram infestados, repetitivamente, três vezes por semana, com 5000 larvas (0,25g) de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, entre 14 e 21 dias de vida até o dia do tratamento (D0). Posteriormente, as infestações ocorreram duas vezes por semana. A cepa utilizada

no experimento foi obtida de bovinos a campo e mantidas em BOD (28°C e 90% de UR).

Diariamente, as baias eram lavadas e, as teleóginas desprendidas dos animais ficavam retidas na peneira, estas eram contadas e anotadas. Para o início do estudo, como pré-requisito com infestação artificial com o *R. (B.) microplus* o número médio de teleóginas desprendidas, por bovinos, foi de 20 (Brasil, 1997). As contagens também serviram como parâmetro para a randomização em três grupos experimentais, no qual um recebeu a associação fluazuron com fenthion; outro recebeu como parâmetro comparativo Fluazuron 2,5% e o último, solução veículo, como grupo controle deste experimento.

Os percentuais de eficácia terapêutica e residual foram calculados, de acordo com as quantificações de teleóginas desprendidas, utilizando-se a fórmula preconizada pelo MAPA, SDA, Portaria n.º 48 (Brasil, 1997), ou seja, a mesma utilizada no estudo com infestação natural. Os índices de eficácia obtidos nas datas experimentais pós-tratamento, possibilitaram estimar a duração do efeito residual da nova formulação avaliada e do Fluazuron 2,5%, quanto às reinfestações por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. O experimento encerrou-se quando a eficácia anti-ixodídica foi inferior a 80%, em duas contagens consecutivas.

4.4 Experimento III: Eficácia mosquicida em bovinos naturalmente infestados por *Haematobia irritans*

O estudo foi conduzido na Fazenda São Francisco, localizada no município de Cajuru-SP. Foram utilizados 30 bovinos mestiços (zebuínos x taurinos), com idade inicial de 18 a 24 meses, macho e fêmeas. Como critério para entrar no estudo de eficácia contra *Haematobia irritans* o número de moscas por bovino, foi de 50 em toda superfície corpórea, média de duas contagens consecutivas (Brasil, 1997). O número do protocolo de aprovação do comitê de ética no uso de animais, referente a este estudo, é de 1862/16.

Contagens de *H. irritans* foram realizadas por duas pessoas, em todo o corpo de cada bovino, por dois dias consecutivos. Tomando por base as médias destas

contagens, os animais foram distribuídos em dois grupos experimentais (tratado e controle). Após pesagem e tratamento no dia zero, os bovinos foram observados por 120 minutos e observados por 120 minutos e realocados em piquetes separados com distância 5km entre os grupos. As contagens de *H. irritans* foram realizadas no 1º e 2º DPT (dia pós tratamento) e repetidas semanalmente até o término, que ocorreu quando a eficácia da nova formulação foi inferior a 80%, em duas contagens consecutivas. Os percentuais de eficácias terapêutica e residual foram calculados em cada uma das datas de contagens, utilizando-se a fórmula preconizada pela Portaria 48, de 12/05/1997, de SDA, MAPA (Brasil, 1997):

$$\text{Percentual de eficácia} = \frac{a - b}{a} \times 100$$

Em que:

a= número médio de moscas no grupo controle (nas respectivas datas de contagens).

b= número médio de moscas no grupo tratado.

4.5 Experimento IV: Efeito bernicida em bovinos naturalmente infestados por larvas de *Dermatobia hominis*

O experimento foi realizado na Fazenda Bananal, município de Formiga, Minas Gerais, utilizou-se 20 bovinos entre 18 e 24 meses, machos, mestiços, naturalmente infestados. No que tange a infestação natural por larvas de *Dermatobia hominis*, cada bovino devia ter no mínimo, 10 nódulos larvados em toda a superfície corporal como critério de inclusão ao estudo (Brasil, 1997). O número do protocolo de aprovação do comitê de ética no uso de animais, referente a este estudo, é de 1858/16.

Na data anterior ao tratamento (D-1), foram feitas contagens de nódulos com larvas vivas de *D. hominis*, presentes em toda a extensão corpórea, mediante leve compressão dos mesmos (inspeção tátil-visual), objetivando a randomização dos dois grupos, com 10 bovinos cada. No dia seguinte (D0), os tratamentos foram realizados com os volumes calculados para cada indivíduo: Veículo da formulação (grupo controle) e nova associação (grupo tratado). As contagens foram realizadas semanalmente, até que a eficácia da nova formulação fosse inferior a 80%. Das quantificações foram calculadas médias aritméticas e geométricas para determinação

dos percentuais de eficácia terapêutica e residual da nova associação medicamentosa. Ara tal cálculo, utilizou-se a seguinte fórmula estabelecida pela Portaria 48, 12/05/97, da SDA, MAPA (Brasil, 1997):

$$\text{Percentual de eficácia} = \frac{a-b}{a} \times 100$$

Em que:

a= número médio de larvas vivas de *Dermatobia hominis* no grupo controle.

b= número médio de larvas vivas *Dermatobia hominis* no grupo tratado.

4.6 Análise estatística

O delineamento de cada estudo foi em parcela subdividida no tempo (“Split Plot in Time”), considerando-se como parcela principal os tratamentos e como parcela secundária, as datas de observação (Banzatto e Kronka, 1989).

Os dados foram analisados utilizando-se a metodologia proposta por Little e Hills (1978), ou seja, transformados em $\log_{10}(x+1)$. As análises foram realizadas aplicando-se o teste F e as médias comparadas pelo teste estatístico adequado (SAS, 1996), adotando nível de significância 5%.

5. RESULTADOS

Durante o experimento não foram observadas anormalidades clínicas decorrente da administração da nova formulação, incluindo intoxicação sistêmica ou evento adverso. Nenhum animal necessitou de tratamento concomitante, ser retirado do experimento ou veio a óbito.

5.1 Experimento I: Eficácia carrapaticida e bovinos naturalmente infestados por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Os resultados referentes às contagens de fêmeas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, entre 4,5 mm a 8,0 mm de comprimento (parternóginas), localizadas no lado esquerdo dos bovinos experimentais, incluindo a análise estatística, estão inseridos na Tabela I (médias aritmética e geométrica, e percentuais de eficácia). Os índices da eficácia anti-ixodídica da nova formulação no 7º dia pós-tratamento (DPT) foram de 93,49% e 93,45%; no 21º DPT de 96,99% e 97,63%, no 28º DPT de 93,23% e 93,55%; no 35º DPT de 87,18% e 88,07%; no 42º DPT de 81,23% e 81,64% (médias aritmética e geométrica, respectivamente). No 49º DPT o índice de eficácia foi inferior a 80%, razão pela qual o estudo foi encerrado.

Com base nos resultados expressos na Tabela I nota-se que as contagens de carrapatos do grupo controle foram estatisticamente ($P \leq 0,05$) superiores às do grupo medicado com a nova formulação, o que possibilita afirmar que a formulação inédita foi eficaz contra o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Tabela I: Resultados das comparações múltiplas do número de fêmeas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, entre 4,5 e 8,0 mm de comprimento, presentes no lado esquerdo de bovinos, naturalmente infestados, pertencentes aos grupos controle e tratado com benzoilfenilureia + organofosforado. Médias aritméticas e geométricas; percentuais de eficácia. São Carlos – SP, 2017.

Dias pós-tratamento	GI (Controle)			GII (Tratado)			Eficácia	
	Méd. Aritm.	Méd. Geom.		Méd. Aritm.	Méd. Geom.		M.A.	M.G.
0	33,07	31,04	Aa	33,53	30,35	Aa		
7	28,80	25,81	Aa	1,90	1,65	Bc	93,49	93,45
14	22,60	18,87	Aa	0,30	0,23	Be	98,69	98,75
21	22,90	20,42	Aa	0,70	0,47	Bde	96,99	97,63
28	23,30	19,96	Aa	1,60	1,26	Bcd	93,23	93,55
35	22,30	18,56	Aa	2,90	2,16	Bc	87,18	88,07
42	28,90	24,16	Aa	5,50	4,33	Bb	81,23	81,64
49	27,10	22,64	Aa	7,40	5,59	Bb	73,07	74,75

M.G.: Médias geométricas= $\text{antilog}[1/n \sum \log(x+1)]-1$ M.A.: Médias aritméticas

Zero = média das contagens nos dias -3, -2 e -1.

1: Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste t ($p \geq 0,05$).

2: Valor de F para o desdobramento de Grupos dentro de Período Experimental

3: Probabilidade de Significância para o valor de F

4: Valor de F para o desdobramento de Período Experimental dentro de Grupo.

5.2 Experimento II: Eficácia carrapaticida em bovinos experimentalmente infestados por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Os resultados referentes às contagens de fêmeas de *R. (B.) microplus* desprendidas, diariamente, dos bovinos nas diferentes datas experimentais constam na Tabela II (médias aritmética e geométrica), inclusive a avaliação estatística. As datas observacionais foram agrupadas a cada três dias para facilitar a interpretação dos resultados. Os percentuais de eficácia terapêutica e de persistência de eficácia da nova formulação avaliada, calculados seguindo a metodologia preconizada pela Portaria nº 48, de 12/05/97, de SDA, MAPA (Brasil, 1997), estão ilustrados na Figura I (médias aritmética e geométrica).

A formulação proposta (benzoilfenilurea e organofosforado) obteve valores de eficácia superiores a 70% do 15º ao 79º DPT. O índice máximo de eficácia (100%) foi obtido do 20º ao 47º DPT. Resultados semelhantes foram alcançados pela formulação Fluazuron 2,5%, ou seja, índices superiores a 70% do 14º até o 78º DPT, e máximo no mesmo período (20º ao 47º DPT).

Os índices de eficácia obtidos pela formulação proposta (Benzoilfenilurea + Organofosforado), nos primeiros 23 dias pós-tratamento, foram de 39,04% e 50,13% (médias aritmética e geométrica), enquanto que a formulação Fluazuron 2,5% apresentou 51,80% e 53,02% (médias aritmética e geométrica).

Observa-se, na tabela II, que as quantificações de teleóginas desprendidas dos grupos medicados foram estatisticamente ($P < 0,05$) inferiores às do grupo mantido como controle, do período referente ao 16º - 18º até as últimas datas experimentais (79º-80º DPT).

Tabela II: Resultados das comparações múltiplas do número de fêmeas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* desprendidas de bovinos, experimentalmente infestados, pertencentes aos grupos Controle (GI), tratado com benzoilfenilureia + organofosforado (GII) e tratado com Fluazuron 2,5 mg (GIII). Médias aritméticas e geométricas. Formiga - MG, 2017.

Dia pós-tratamento	GI (Controle)			GII (Tratado)			GIII (Flua. 2,5%)		
	Méd. Aritm.	Méd. Geom.		Méd. Aritm.	Méd. Geom.		Méd. Aritm.	Méd. Geom.	
0	35,89	32,36	Aa	36,06	33,23	Aab	35,89	34,45	Aa
1	35,83	33,95	Aa	41,17	36,94	Aa	25,50	24,63	Aa
4	37,50	35,28	Aa	47,83	44,41	Aab	35,50	35,10	Aa
7	29,83	27,73	Aa	33,33	23,92	Abc	22,83	21,07	Ab
10	24,33	20,37	Aa	25,17	14,89	Acd	19,80	18,74	Ab
13	24,67	19,49	Aa	21,50	9,35	Ade	13,00	10,54	Ac
16	28,17	25,01	Aa	3,67	2,15	Bfg	3,40	2,52	Bdef
19	22,33	21,67	Aa	1,17	0,82	Bh	0,00	0,32	Bg
22	25,00	24,33	Aa	0,00	0,00	Bh	0,00	0,00	Bg
25	32,67	29,17	Aa	0,00	0,00	Bh	0,00	0,00	Bg
28	33,50	29,78	Aa	0,00	0,00	Bh	0,00	0,00	Bg
31	36,17	33,13	Aa	0,00	0,00	Bh	0,00	0,00	Bg
34	35,50	32,48	Aa	0,00	0,00	Bh	0,00	0,00	Bg
37	25,50	23,82	Aa	0,00	0,00	Bh	0,00	0,00	Bg
40	27,33	26,70	Aa	0,00	0,00	Bh	0,00	0,00	Bg
43	37,33	23,44	Aa	0,00	0,00	Bh	0,00	0,00	Bg
46	40,33	34,68	Aa	0,00	0,00	Bh	0,00	0,00	Bg
49	42,67	36,23	Aa	1,50	0,91	Bfgh	2,00	1,64	Bde
52	45,83	39,64	Aa	1,67	1,04	Bfgh	2,60	2,10	Bdef
55	36,00	32,28	Aa	1,17	0,65	Bgh	1,20	0,89	Bef
58	35,67	32,78	Aa	1,33	0,71	Bgh	1,60	1,05	Bf
61	31,50	29,79	Aa	1,33	0,70	Bgh	1,20	1,05	Bef
64	35,33	31,69	Aa	0,83	0,51	Bgh	1,00	0,89	Bf
67	36,83	33,06	Aa	0,83	0,51	Bgh	1,20	1,05	Bdef
70	35,33	31,84	Aa	1,50	0,74	Bfgh	1,40	1,22	Bdef
73	32,33	29,71	Aa	2,17	0,82	Bfgh	2,40	1,99	Bd
76	33,17	29,86	Aa	4,50	1,23	Ref	5,00	4,63	Bc
79	31,67	29,25	Aa	10,17	7,67	Bcd	10,60	10,27	Bb

Zero = média das contagens nos dias -3, -2 e -1; Médias geométricas= $\text{antilog}[1/n \sum \log(x+1)]-1$ M.A.: Médias aritméticas

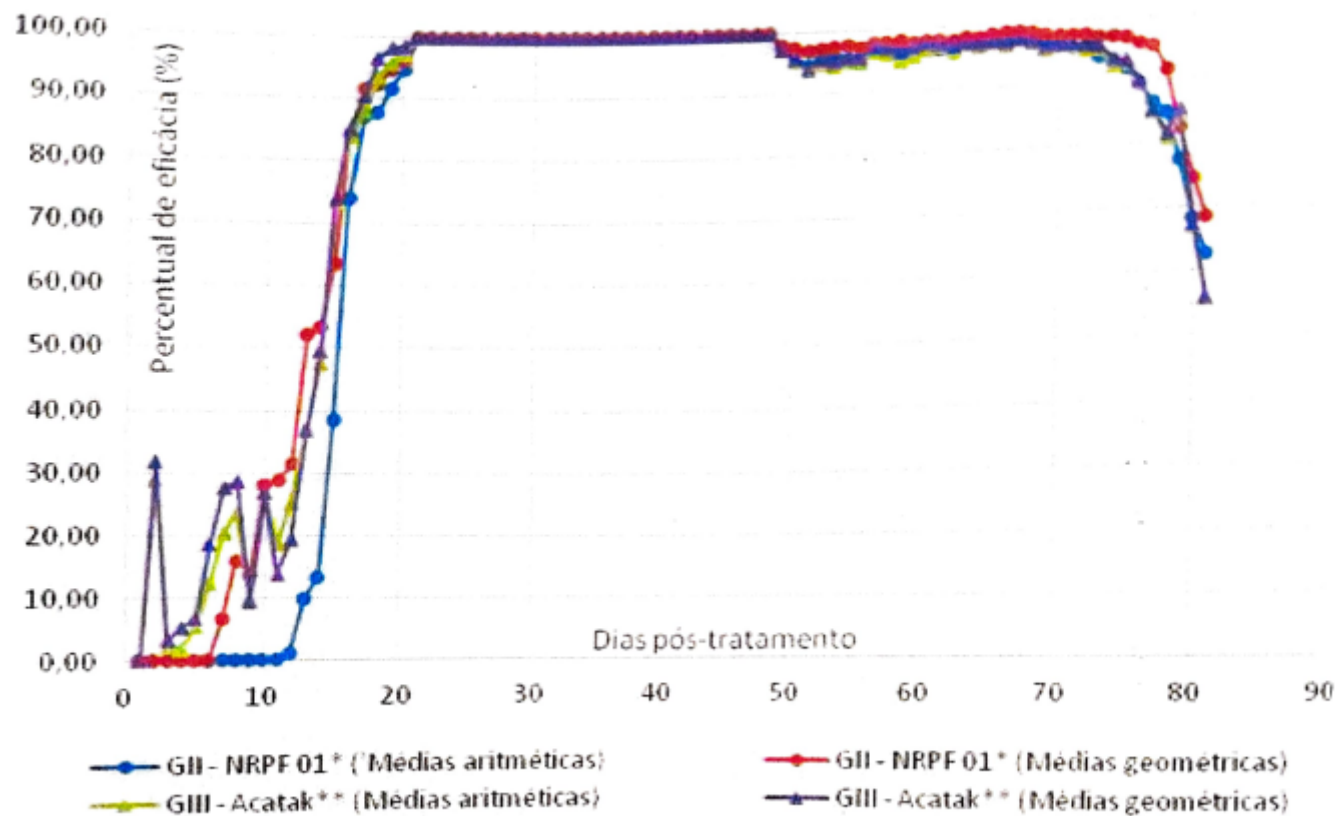
.1: Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste t ($p \geq 0,05$).

2: Valor de F para o desdobramento de Grupos dentro de Período Experimental

3: Probabilidade de Significância para o valor de F

4: Valor de F para o desdobramento de Período Experimental dentro de Grupo.

Figura 1: Percentuais de eficácia das comparações múltiplas do número de fêmeas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* desprendidas de bovinos, experimentalmente infestados, pertencentes aos grupos controle (GI), tratado com benzoilfenilureia + organofosforado (GII) e tratado com Fluazuron 2,5% (GIII). Formiga – MG, 2017.



5.3 Experimento III: Eficácia mosquicida em bovinos naturalmente infestados por *Haematobia irritans*

Os resultados referentes às contagens da “mosca-dos-chifres” (*Haematobia irritans*), presentes nos bovinos de cada grupo experimental, incluindo, percentuais de eficácia terapêutica, estão na tabela III.

Com base na Tabela III, verifica-se que a formulação proposta alcançou eficácia mosquicida máxima de 99,96% (média aritmética) no 1º DPT. No 3º DPT, os índices de eficácia foram de 99,86% e 99,87%; no 7º DPT de 99,85% e 99,83%. No 14º DPT houve ligeiro declínio dos percentuais, atingindo 95,52% e 93,19% (médias aritmética e geométrica). No dia 21º DPT e 28º DPT, os índices de eficácia foram inferiores a 80%, razão pelo qual o estudo foi encerrado.

A partir da análise dos resultados expressos na Tabela III, referente a análise estatística efetuada, utilizando-se das quantificações de *Haematobia irritans* presentes, em cada data, verifica-se que as contagens de “moscas-dos-chifres” do grupo controle foram estatisticamente ($P \leq 0,05$) superiores às contagens registradas no grupo medicado, durante todo o período experimental, o que demonstra que a associação inédita foi constantemente desafiada.

Tabela III: Resultados das comparações múltiplas do número de *Haematobia irritans* presentes no corpo de bovinos, naturalmente infestados, pertencentes aos grupos controle e tratado com benzoilfenilureia + organofosforado. Médias aritméticas e geométricas; e percentuais de eficácia. Cajuru – SP, 2017.

Dias pós-tratamento	GI (Controle)			GII (Tratado)		Eficácia	
	Méd. Aritm.	Méd. Geom.		Méd. Aritm.	Méd. Geom.	M.A.	M.G.
0	237,27	132,27	Aa	236,57	139,39	Aa	
1	152,60	106,61	Aa	0,07	0,05	Be	99,96
3	140,73	101,34	Aa	0,20	0,13	Be	99,86
7	180,73	106,25	Aa	0,27	0,18	Be	99,85
14	166,80	97,27	Aa	7,47	6,62	Bd	95,52
21	168,67	96,40	Aa	35,93	28,58	Bc	78,70
28	179,93	100,24	Aa	67,20	53,32	Bb	62,65

M.G.: Médias geométricas= $\text{antilog}[1/n \times \log(x+1)]-1$ M.A.: Médias aritméticas

1: Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste t ($p \geq 0,05$).

2: Valor de F para o desdobramento de Grupos dentro de Período Experimental

3: Probabilidade de Significância para o valor de F

4: Valor de F para o desdobramento de Período Experimental dentro de Grupo.

5.4 Experimento IV: Efeito bernicida em bovinos naturalmente infestados por larvas de *Dermatobia hominis*

Os resultados referentes às contagens de nódulos contendo larvas vivas de *Dermatobia hominis*, localizados em todo corpo dos bovinos experimentais (médias aritmética e geométrica), incluindo os percentuais de eficácia terapêutica e a análise estatística das comparações entre os grupos controle e tratado, estão registrados na Tabela IV.

Analisando a Tabela IV verifica-se que as infestações por larvas de *Dermatobia hominis* no grupo controle foram superiores às registradas nos animais tratados, ao longo de todo o estudo. Tal fato possibilita afirmar que a formulação em questão foi permanentemente desafiada, quanto à presença do ectoparasito.

A análise dos percentuais de eficácia revela que a formulação alcançou índices máximos de eficácia de 94,56% e 95,81% no 14º DPT (médias aritméticas e geométricas, respectivamente). Os índices de eficácia da formulação avaliada no 7º DPT foram de 92,61% e 94,25%; no 21º de 93,62% e 94,89%; no 28º de 87,01% e 91,96%; no 35º de 81,79% e 88,52% (médias aritmética e geométrica, respectivamente). No 42º DPT, o índice de eficácia foi inferior a 80%(médias aritméticas), sendo o estudo encerrado.

Tabela IV: Resultados das comparações múltiplas do número de *Dermatobia hominis* presentes no corpo de bovinos, naturalmente infestados, pertencentes aos grupos controle e tratado com benzoilfenilureia + organofosforado. Médias aritméticas e geométricas; e percentuais de eficácia. Formiga – MG, 2017.

Dias pós-tratamento	GI (Controle)			GII (Tratado)			Eficácia	
	Méd. Aritm.	Méd. Geom.		Méd. Aritm.	Méd. Geom.		M.A.	M.G.
-1	24,00	22,26	Aa	24,20	21,94	Aa		
7	28,40	26,32	Aa	2,10	1,51	Bcd	92,61	94,25
14	29,40	27,93	Aa	1,60	1,17	Bd	94,56	95,81
21	29,80	28,34	Aa	1,90	1,45	Bcd	93,62	94,89
28	33,10	31,60	Aa	4,30	2,54	Bcd	87,01	91,96
35	32,40	30,52	Aa	5,90	3,50	Bcd	81,79	88,52
42	34,30	32,50	Aa	9,80	6,43	Bb	71,43	80,23

M.G.: Médias geométricas= $\text{antilog}[1/n \times \log(x+1)]-1$ M.A.: Médias aritméticas

1: Valores seguidos pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste t ($p \geq 0,05$).

2: Valor de F para o desdobramento de Grupos dentro de Período Experimental

3: Probabilidade de Significância para o valor de F

4: Valor de F para o desdobramento de Período Experimental dentro de Grupo.

6.DISCUSSÃO

Todos os bovinos experimentais foram mantidos em boas condições gerais de saúde, não sendo observados eventos adversos e nem houve necessidade de tratamento concomitante ao longo de cada um dos quatro estudos conduzidos. Adicionalmente, não foram observadas reações dermatológicas no local da aplicação do fármaco testado, em nenhum dos experimentos, decorridos até 160 dias pós-experimento, período no qual os bovinos foram mantidos em monitoração.

A intoxicação aguda por organofosforados, em mamíferos, induz a uma combinação de sintomas muscarínicos e nicotínicos que geralmente levam a morte por parada respiratória (Marrs, 1996). A formulação mostrou eficácia contra os ectoparasitos alvo (*H. Irritans* e *D. hominis*), sem a ocorrência de efeitos adversos nos bovinos. A estimulação muscarínea e nicotínica de forma não letal, mas lesiva, levaria a manifestação de sialorreia, lacrimejamento, indigestão (espasmos e diarreia), diminuição da frequência cardíaca e distúrbios visuais; contrações musculares descontroladas e paralisia, respectivamente (Elersek e Filipic, 2011). Nenhum sinal clínico congruente com intoxicação foi diagnosticado nos bovinos. As primeiras alterações clínicas surgem em uma à duas horas após a exposição ao produto e nos casos não letais, a recuperação ocorre em 48 horas. Por isso, após a administração da formulação, contendo benzoilfenilurea e organofosforado, os animais ficaram em observação durante este período inicial.

As intoxicações crônicas decorrem de administração de forma errônea (repetida em intervalos curtos, dosagem excessiva ou por contaminação ambiental – fontes de água, feno feito de plantas que foram pulverizadas, uso de latas inseticidas vazias como bebedouros) (Gava, 2001). Alguns organofosforados, como clorpirifós, diclorvós, paration e triclorfon produzem um efeito tóxico não-relacionado à capacidade de inibir a acetilcolinesterase, denominado neurotoxicidade tardia, que se caracteriza por ataxia e paralisia dos membros (Johnson, 1975). Diclovors, dioxation e paration são considerados mais tóxicos para fêmeas e clorpirifós, dimetoato e fenthion para machos. Ainda, estes últimos devem ser administrados com cautela para bovinos machos jovens, devido sua capacidade de interferência com a testosterona (Radostitis et al., 2000).

Organofosforados provocam surtos de intoxicação em animais de produção que podem gerar grandes prejuízos à pecuária (Mendonça et al., 2010). No início de 2000, alguns foram banidos pelos riscos em relação a resíduos alimentícios, ao meio ambiente e aos outros seres vivos (aves, peixes e vida marinha). Pesquisas apontam que se medidas preventivas forem tomadas, como a diminuição da concentração do princípio, por exemplo, alguns deles podem ser liberados, como *pour on*, minimizando, assim, quaisquer riscos desnecessários para o ambiente e para o animal (EPA, 2001).

O outro princípio ativo (Fluazuron, grupo Benzoilfenilurea), presente na formulação avaliada, teve como alvo o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Os resultados obtidos nos estudos mostraram eficácia, sem que houvesse quaisquer alterações que indicassem algum dano sistêmico para os bovinos. Este princípio ativo tem um mecanismo de ação muito específico, e por isso, era esperado que fosse muito menos tóxico para mamíferos. Dos estudos já referidos, quanto à dose tóxica de alguns princípios ativos de benzoilfenilureias confirmam esta propriedade. A dose tóxica do diflubenzuron e trifluburon, em ratos, é superior a 5000 mg/kg. Estudos com bovinos medicados com Fluazuron, na dose 2,5 mg/kg, revelaram ausência de sinais clínicos, nos 266 animais utilizados (Bull et al., 1996). Outros estudos foram feitos para avaliar efeitos, a longo prazo. Ratos que receberam 10 g/kg de diflubenzuron, por dois anos, e cães alimentados com 250 mg/kg por um ano, não apresentaram efeitos adversos e, os resultados sugeriram que este princípio ativo não é carcinogênico (Willems et al., 1986). Posto isto, pode-se inferir que os princípios ativos do grupo benzoilfenilureia são seguros para bovinos, ou seja, apresentam alta especificidade e baixa toxicidade para mamíferos (Splinder, 1990).

A Portaria 48 (Brasil, 1997), que rege as metodologias para estudos com antiparasitários, preconiza que, para ser considerado um fármaco eficaz, os carrapaticidas, em teste a campo, devem apresentar uma eficácia média no 7º e 14º DPT de $\geq 95\%$. No estudo I, foram obtidos eficácia de 96,09% e 96,10% (médias aritméticas e geométricas, respectivamente). A atividade bernicida deve ser no mínimo de 90% no 7º DPT. No estudo IV, a nova formulação alcançou 92,61% e 94,25% de eficácia. Posto isto, verifica-se que ambas as metas foram atingidas. Faz-se necessário considerar que não há exigência específica para mosquicidas (Brasil, 1997), mesmo assim, a nova associação medicamentosa atingiu valores bons de eficácia.

No experimento II, em que utilizou-se infestação artificial com o *R. (B.) microplus*, ambas as formulações avaliadas (nova e Fluazuron 2,5%) não atenderam a exigência mínima de eficácia (95%, média nos primeiros 23 DPT) (Brasil, 1997). As médias da formulação fluazuron+fenthion foram de 39,04% e 50,13% (médias aritméticas e geométricas, respectivamente). Fluazuron 2,5% alcançou 51,80% e 53,02% (médias aritméticas e geométricas, respectivamente).

Devido às particularidades de metabolização de Fluazuron, sua eficácia é considerada mais lenta (Maciel et al., 2016). Tal composto (inibidores do crescimento) necessita que os ácaros entrem na fase de muda para manifestarem os primeiros indícios de eficácia (Holdsworth et al., 2006). Portanto, a exigência do MAPA (Brasil, 1997) não pode ser aplicada aos princípios ativos que pertencem ao Benzoilfenilureia.

Fármacos com mecanismos de ação mais lentos devem conter em seu rótulo, a indicação do tempo requerido para o efeito carrapaticida, neste caso, de acordo com critérios gerados em pesquisas científicas (Holdsworth et al., 2006). Seguindo esta sugestão, estabeleceu-se que os Benzoilfenilureias devem alcançar eficácia acaricida a partir do 14ºDPT. Outros autores encontraram efetividade do Fluazuron, na mesma dosagem utilizada nos estudos desta dissertação, a partir do 14º DPT (Cruz et al., 2014; Gomes et al., 2015; Maciel et al., 2016). Do 15º DPT ao 78º DPT ambas as formulações utilizadas atingiram percentuais de eficácia superiores a 80%, o que possibilita inferir que a nova formulação é eficaz contra o *R. (B.) microplus* (Maciel et al., 2016).

Provavelmente, como já discutido em relação ao mecanismo e espectro de ação dos dois princípios ativos utilizados na nova formulação, é possível que haja uma eficácia contra outros ectoparasitos existentes nos rebanhos mundiais, porém, são necessárias mais pesquisas com infestações desses outros parasitos para comprovar tal inferência. O amplo espectro de ação dos organofosforados e dos benzoilfenilureias inclui eficácia contra uma ampla variedade de insetos da ordem Diptera, entre outras (Malinowski e Paeinska, 1992; Ishaaya e Horowitz, 1998; Pluciennik et al., 1999; Barazani, 2001; Ishaaya e Horowitz, 2002; Cutler et al., 2005; Arredondo-Jimeniz e Valdez-Delgado, 2006; Mascari et al., 2007).

Embora de menor impacto, a resistência de outros artrópodes, como *D. hominis* (Neves et al., 2015) e *H. irritans*, (Sparks et al., 1985; Byford et al., 1985; Kunz et al.,

1995; Guerrero et al., 1997; Kaufman et al., 1999; Guglielmoni et al., 2001; Temeyer et al., 2008) frente aos ectoparasitídeos, também é de suma importância na pecuária. Embora existam os crescentes casos de resistência de princípios ativos comprovadamente pouco eficazes como mosquicidas, pode-se considerar que o uso de organofosforados, ainda alcança bons índices de eficácia. Há, porém, uma preocupação com resistência cruzada por piretroides (Guglielmoni et al., 2001) e alguns indícios de resistência ao dianizol (Temeyer et al., 2008). Independentemente deste fato, o fenthion mostrou bons resultados nos experimentos a campo, com populações brasileiras de moscas e bernezes, realizados na região sudeste do país e, utilizando-se em bovinos naturalmente infestados.

A inédita formulação (Fluazuron + Fenthion), utilizada nos quatro estudos clínicos que integram esta dissertação, foi desenvolvida e será comercializada pela Biovet/Vaxxinova®.

7. CONCLUSÃO

Os resultados alcançados nos quatro estudos clínicos conduzidos possibilitam inferir que a inédita formulação Fluazuron + Fenthion é eficaz contra os principais ectoparasitos de bovinos do Brasil.

Ressalta-se que, por isso, tem grandes perspectivas de sucesso no controle dos principais ectoparasitos de bovinos no país.

8. BIBLIOGRAFIA

Abbas RZ, Zaman MA, Colwell DD, Gilleard J, Iqbal Z. Acaricide resistance in cattle ticks and approach to its management: The state of play. **Vet. Parasitol**, 203 (2014) 6-20.

ABIEC - Associação Brasileira de Indústrias Exportadoras de Carne. Exportações brasileiras de carne bovina. In natura, industrializada, miúdos, salgadas, tripas. <www.brazilianbeef.org.br>. Jan/2017 a fev 2017. 1-16.

Arredondo-Jimenes JI e Valdez-Delgado KM. *Aedes aegypti* pupal/demographic surveys in Southern Mexico: consistency and practicality. **Ann Trop Med Parasitol**. 2006 (100): 1 17-32.

Banzato DA e Kronka SN. Experimentação agrícola. Jaboticabal: **FUNEP**, 1989. P247.

Barazani A. Rimon, na IGR insecticide. **Phytoparasitica**. 2001 29-59.

Barros ATM. Desenvolvimento de *Haematobia irritans* em massas fecais de bovinos mantidas em laboratório. **Pesq. Agropec. Brás.**, Brasília. 2002. (37)2: 217-221.

Becher HM, Becker P, Prokic-Immel R, Wirtz W. CME-134 a new chitin synthesis inhibiting insecticide. Proc. 10th Int. **Conqr. Plant Prot**. 1: 408 (1985).

BEEF2LIVE. World beef exports: ranking of countries. <<http://beef2live.com/story-world-beef-exports-ranking-countries-0-106903>>. 2017.

Bishop BF, Bruce CI, Evans NA, Goudie AC, Gration KAF, Gibson SP, Pacey MS, Perry D, Walshe NDA, Witty MJ. Selamectin: a novel broad-spectrum endectocide for dogs and cats. **Veterinary Parasitol**. 2000 (91): 163-176.

Blagburn BL e Lindsay D. Ectoparasitoidas. Em: ADAMS H.R. **Farmacologia e Terapêutica em Veterinária**. 8ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 2010. P 851-870.

Brasil. Lei nº 11.794, de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. **Diário Oficial** [da República Federativa do Brasil], Brasília, n.196, p.1, 9 de outubro. 2008. Seção 1.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 48 de 12 de maio de 1997. **Diário Oficial** (da) União. Brasília, 12 de maio de 1997. Seção I, n. 92, p. 10165-10169.

Buainan AM, Jardim A, Alves E, Barros JRM, Neto O, Navarro Z. A economia agropecuária brasileira – o que fazer? **Agenda Agropecuária**. 2016. P 1-4.

Bull MS, Overend D, Hess EA. Suession of *Boophilus microplus* populations with fluazuron - na acarine growth regulator. **Aust. Vet. J**. 1996; (74): 468-470.

Byford RL, Quinsberry SS, Sparks TC, Lockwood JA. Spectrum of insecticide Cross-resistance in Pyrethroid-resistant Populations of *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). **J. of Econ. Entomology**. 1985 770-775.

CFSPH – The Center for Food Security e Public Health. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* – Southern Cattle Tick. Iowa State University. **Institute for International Cooperation in Animal Biologics**. 2007. P 1-3.

Chapman RF. The insects: structure and function. 3rd ed. Cambridge, Massachusetts: **Havard University Press**. 1982 p. 919.

Chavasse DV e Yap HH. Chemical Methods for the control of vectors and pests of public health importance. **World Health Organization**, Geneva. 1997.

Christensen CM, Dobson RC. Effects of testosterone propionate on the sebaceous glands and subsequent attractiveness of Angus bulls and steers to horn flies, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). **J. Kans. Antomol. Soc**, Kansas, 1979. (52): 386-391.

Cohen E e Cassida JE. Inhibition of gut chitin synthetase, **Pestic. Bioch. Hysiol**. 13: 129 (1980).

Cohen E e Cassida JE. Insect chitin synthetase as a biochemical probe for insecticidal compounds, in: “Pesticide Chemistry: Human welfare and the enviroment”. Miyamoto J e Kearneyeds PC, **Pergamon Press**, Oxford. (1993).

Cohen E. *In vitro* chitin synthesis in na insect: formation and structure of microfibrils, Euro. **J. Cell Biol**. 16: 284 (1982).

Cohen E. Inhibition of chitin synthesis in insect systems. Em: Muzzarelli R, Jeuniaux C, Gooday GW. Chitin in Nature and Tecnology. Section III. **Library of Congress** in Public Data (3rd : 1985: Anaconda, Italy). Plenum Press, Nova Iorque, 1986. 139-148.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Leite e derivados. Conjuntura mensal. <www.conab.gov.br>. Brasilia 2016. P 1-7.

Coop RL, Taylor MA, Jacobs DE, Jackson F. Ectoparasites: Recent advances in control. **Trends Parasitol**. 2002 (18):55-56.

Costa MSF, Guimarães MP, Lima WS, Costa AJF, Facury Filho EJ, Araujo RN. Seasonal variation and frequency distribution of ectoparasites in crossbreed cattle in Southeastern Brazil. **Journal of Veterinary Medicine**, 2014. P 1-8.

Cruz BC, Lopes WDZ, Maciel WG, Fellipelli G, Teixeira WFP, Favero FC. Effect of spray formulation on the reproductive parameters of a susceptible population of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to ivermectin(200, 500 and 630mg/kg) in field studies in Brazil. **Vet. Parasitol**. 2014; (207): 309-317.

Cutler BC, Scott-Dupree CD, Tolman JH, Harris CR. Acute and sublethaltoxicity of novaluron, a novel chitin synthesis inhibitor, to *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Pest. Manag. Sci**. 2005 (61): 1060-1068.

Elersek T e Filipic M. Organophosphorus Pesticides – Mechanisms of their toxicity. Em: Stoytcheva M. Pesticides – **The impacts of Pesticide Exposure**. In tech open sciences: <http://www.intechopen.com/books/pesticides-the-impacts-of->

[pesticideexposure/organophosphorus-pesticides-mechanisms-of-their-toxicity](#) 2011 243-260.

EPA – United States Environmental Protection Agency. **Interim registration eligibility decision for fenthion**. 2001. P-1-98.

FAO – Food and Agriculture Organization. Milk and Milk products – Market summaries. <www.fao.org> 2016. P46-116.

Flechtmann CHW. **Elementos de acarologia**. Livraria Nobel, São Paulo, 1977.

Fukuto TR. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. **Environment Health Persp.** 1990; (87):245-254.

Gava A. Intoxicação por organofosforados e carbamatos. In: Riet Correa F. et al. **Doenças de ruminantes e equinos**. 2ªed. São Paulo, Valera editora e Livraria 2001 35-42.

Gomes a, Souza JC, Resende AM, Curvo JBE. Distribuição corporal e sazonalidade do berne (larva de *Dermatobia hominis*) em bovinos tratados ou não com flor de enxofre. **Pesq. Agropec. Bras.** 1988. 23(8):825-829.

Gomes LVC, Lopes WDZ, Cruz BC, Teixeira WF, Felippelli G, Maciel WG, Bichuette MA, Ruivo MA, Colli MHA, Carvalho RS, Martinez AC, Soares VE, Costa AJ. Acaricidal effects of Fluazuron (2.5 mg/kg) and a combination of fluazuron (1.6mg/kg) + ivermectin (0.63mg/kg), administered at different routes, against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* parasitizing cattle. **Experimental Parasitology**. 2015 (153) 22-28.

Gonzales JC, Muniz RA, Farias A, Gonçalves LCB, Rew, RS. Therapeutic and persistent efficacy of doramectin against *Boophilus microplus* in cattle. **Veterinary Parasitology**, v.49, p. 107-119, 1993.

Gooday GW e Trinci APJ. Wall structure and biosynthesis in fungi. In: Eukaryotic Microbial Cell, **Soc. Gen. Microbiol. Sym.** 30: 202(1980).

Graf JF. The role of insect growth regulators in arthropod control. **Parasitol. Today** 1993;(9):471-474.

Granett J, Bisabri-Ershadi B, Hejazi MJ. Some parameters of benzoylphenylurea toxicity to beet armyworms (Lepidoptera: Noctuidae). **J. Econ. Entomol.** 76:399 (1983).

Grisi L, Leite RC, Martins JRS, Barros ATM, Andreotti R, Cançado PHD, Léon AAp, Pereira JB, Villela HS. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Braz. J. Parasitol.** 2014. 23 (2): 150-156.

Grosscurt C. Effects of diflubenzuron on some chemical and mechanical properties of the elytra of *Leptinotarsa decemlineata*. **Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. Amsterdam** 83C: 143 (1980).

Grosscurt C. Effects of diflubenzuron on mechanical penetrability, chitin formation, and structure of the elytra of *Leptinotarsa decemlineata*. **J. Insect Physiol.** 24: 821 (1978).

Grube A, Donaldson D, Kiely T, Wu L. Pesticides industry sales and usage 2006 and 2007 market estimates. Biological and economic analyses division office of pesticides programs. Office of chemical safety and pollution prevention U.S. **Environment Protection Agency, Washinton**. 2011. P. 1-33.

Guerrero FD, Jamroz RC, Kammlah D, Kunz SE. Toxicological and molecular Characterization of Pyrethroid-resistant Horn Flies, *Haematobia irritans*: Identification of *kdr* and *super-kdr* Point Mutantions. **Insect Biochem. Molec. Biol.** 1997 (27):8/9 745-755.

Guglielmone AA, Castelli ME, Volpogni MM, Medus PD, Martins JR, Suárez VH, Anziani OS, Mangold AJ. Toxicity of cypermethrin and diazinon to *Haematobia irritans* (diptera: Muscidae) in its American Southern range. **Vet Parasitol.** 2001 (110) 67-73.

Guimarães JH, Papavero N e Prado AP. As miíases na região enotropical (identificação, biologia, bibliografia). **Ver. Bras. Zool.** 1983. 1: 239-416.

Hall M e Wall R. Myiasis fo Humans and Domestic Animals. **Advances in Parasitology**. 1995 (35) 257-334.

Henderson G e Foil L. Efficacy of diflubezuron in simulated households and yard conditions against tha cat flea *Ctenocephalides felis* (Bouché) (Siphonoptera: Pulicidae). **J. Med. Entomol.** 1993. (30):619-621.

Hink W, Drought D e Barnett S. Effect of experimental systemic compound, CGA – 184699, on life stages of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). **J. Med. Entomol.** 1991. (28): 424-427.

Holdsworth PA, Kemp D, Green P, Peter RJ, De Bruin C, Jonsson NN. World Association for the advancement of veterinary parasitology (W.A.A.V.P.) Guidelines for evaluation the efficacy of acaricides against ticks (Ixodidae) on ruminantes. **Vet Parasitol.** 2006;(136):29-43.

Hunter E e Vicent JF. The effects of a novel insecticide in insect cuticule, **Experientia** 30: 1432 (1914).

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Área territorial Brasileira. 2013. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/geocienncias/cartografia/default_territ_area.shtm>.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Indicadores IBGE - estatística da produção pecuária. Set 2016. P1-45.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Utilização das terras dos estabelecimentos agropecuários em 31.12 segundo as Grandes Regiões e Unidades da Federação. 2006. <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/ta_bela3_1.pdf>.

Ishaaya I e Horowitz AR. Insecticides with novel modes of action: an overview. In: Ishaaya I & Degheele D. **Insecticides with Novel Modes of Action**. Springer, Berlin. 1998 p.1-24.

Ishaaya I e Horowitz AR. Novaluron: a novel IGR: its biological activity and importance in IPM programs. Second Israel – Japan Workshop: **Ecologically Sound New Plant Protection**. 2002 (30):1-6.

Johnson CD e Russel RL. A rapid, simple radiometric assay for cholinesterase, suitable for multiple determinations. **Anal. Biochem.** 1975 (64) 229-238.

Jones SR e Kunz SE. Effects of immersion in water on survival of preimaginal stages of *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). **Journal of Medical Entomol**, Lanham, 1996 (33):1 27-31.

Jonsson NN. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to Bos indicus cattle and their crosses. **Vet Parasitol** 2006. 137 (1-2):1-10.

Kaufman PE, Lloyd JE, Kumar R, Lysyk TJ. Horn Fly Susceptibility to Diazinon, Fenthion, and Permethrin at Select locations in Wyoming. **J. Agric. Urban Entomology** 1999 (16):2 141-157.

Kemp DH, Hughes S, Binnington KC, Bird PEE, Nolan J. Bull Soc. In: **Jn Parasitol**. 1990 (8) 1048.

Klafke G, Webster A, Agnol BD, Pradel E, Silva J, La Canal LH, Becker M, Osório MF, Mansson M, Santos J, Reck J, Martins JR. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* from Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Ticks and Tick-born Diseases** 2017 (8) 73-80.

Klompen H. Ticks, the Ixodida In: Marquardt WC, Black WC, Freire JE, Hagedorn HH, Hemingway J, Higgs S, James AA, Kondratieff B, Moore CG. **Biology of Diseases Vectors**. 2º ed Colorado: Elsevier Academic Press 2005 p. 45-55.

Kunz SE e Kemp DH. Insecticides and acaricides: resistance and environment impact. **Reveu Scientifique et Technique Office International des Epizooties**. 1994. (13) 1249-1286.

Lacey LA e Sullá MS. Biological activity of diflubenzuron and three new IGRs against *Simulium vittatum* (Diptera: Simuliidae). **Mosquito News**. 1978. 338:377.

Ladeira SL, Riet-Correa F, Pereira DB, Gordon RC. Role of *Pasteurella granulomatis* and *Dermatobia hominis* in the etiology of Leishmaniasis in Cattle. **Annals New York academy of Science**. 1996. 359-368.

Larini L. **Toxicologia**. São Paulo: Manole, 1987. P315.

Little TM e Hills FJ. Agricultural experimentation designs and analyses. **Wiley**, New York, 1978. P350.

Lopes WZD, Pinheiro G, Borges FA, Costa AJ, Vulcani VAS, Lima CRO. Terapia anti-helmintica. Lopes WZD e Costa AJ. **Endoparasitoses de ruminantes**. Editora UFG, 2017. P.1-46.

Lovis L, Mendes MC, Perret J-L, Martins JR, Bouvier J, Betschart B, Sager H. Use of the larval test to determine acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Brazilian field populations. **Vet. Parasitol**. 2013 (191) 323-331.

Maciel WG, Lopes WDC, Gomes LVC, Cruz BC, Felippelli G, Santos IB. Suscetibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to fluazuron (2.5mg/kg) and a combination of novaluron (2.0mg/kg) + eprinomectin (0.36mg/kg) in Field studies in Brazil. **Preve Veteri Medi.** 2016;(135):74-86.

Magalhães FEP e Lessiku C. Efeito do controle do berne sobre o ganho de peso e qualidade dos couros em novilhos de corte. **Pesq. Agropecu Bras** 1982. 17(2): 329-336.

Malinowski H e Pawinska M. Comparative evaluation of some chitin synthesis inhibitor as insecticides against Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* (Say). **Pesticide Science.** 1992 (35): 349-353.

Margulis S. Causes of Deforestation of the Brazilian Amazon. Washinton DC. 2003. Disponível em :<<http://elibrary.worldbank.org/doi/book/10.1596/0-8213-5691-7>>.

Marrs KA. The functions and regulation of glutathione s- transferase in plants. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology.** 1996 (47): 127-158.

Mascari TM, Mitchell MA, Rowtan ED, Foil LD. Evaluation of novaluron as a feed-through insecticide for control of immature sand flies (Diptera: Psychodidae). **J. Med. Entomol.** 2007 (44) 714-717.

Mayer RT, Chen AC, Deloach JR. Characterization of a chitin synthase from the stable fly, *Stomoxys calcitrans* (L.), **Insect Biochem.** 10: 549 (1980).

Mendes EC, Lima CK, Nogueira AH, Yoshihara E, Chiebao DP, Gabriel FH, Ueno TE, Namindome A, Klafke GM. Resistance to cypermethrin, deltamethrin and chlorpyrifos in populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from small farms of the State of São Paulo, Brazil. **Vet. Parasitol.** 2011 (178) 383-388.

Mendonça RP. Segurança clínica atividade endectocida e farmacocinética de resíduos de uma nova alternativa terapêutica (fluazuron + abamectina) em bovinos. (2010) p. 167. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista. Ministério da Agricultura e Abastecimento, **Secretaria da Defesa Agropecuária, Portaria nº 48, 12/05/1997.**

Merzendofer H e Zimoch L. Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. **The journal of Experimental Biology.** Cambridge 2003 (206): 4393-4412.

Mitsui T, Nobusawa C, Fukami J. Inhibition of chitin synthesis by diflubenzuron in *Mamestra brassicae* L. **J. Pestic. Sci** 6: 155 (1981).

Mitsui T, Nobusawa C, Fukami J. Mode of inhibition of chitin synthesis by diflubenzuron in cabbage armyworm **J. Pestic. Sci** 9: 1 (1984).

Nakagawa Y, Kitahara K, Nishioka T, Iwamura H, Fujita T. Quantative structure-activity studies of benzoilfenylurea larvicides In. Effect of substituents at aniline moiety against *Chilo suppressalis* Walker. **Pestic. Biochem. Physiol.** 21: 309 (1984).

Neves JH, Carvalho N. e Amarante AFT. *Dermatobia hominis*: Potencial risk of resistance to macrocyclic. **Vet parasitol.** 2015 (212): 483-486.

Nimmo WB, De Wilde PC e Verloop A. The degradation of diflubenzuron and its chief metabolites in soil. Part I: Hydrolytic cleavage of diflubenzuron. **Pestic. Sci.** 15: 514 (1984).

Nimmo WB, De Wilde PC e Verloop A. The degradation of diflubenzuron and its chief metabolites in soil. Part II: Fate of 4-chlorophenylurea. **Pestic. Sci.** 16:(1984).

Nogueira MP e Tonini MGO. Programas sanitários: custos ou benefícios? Em: Pires AV. Bovinocultura de corte. Piracicaba: **FEALQ**. 2010. P. 1241-1249.

Norris DE. Mosquito borne disease as a consequence of land use change. **Eco Health Journal Consortium.** (1): 19-24. 2004.

O'Donel A. Cutaneous myiasis. Em: O'Donel A. **Arthropods and human skin.** Berlin, Springer, 1984. P. 87-113.

Oliveira GP. Dinâmica parasitária de bernes em bovinos. Incidência em relação ao decúbito. **Pesq Agropec Bras.** 1991 (26): 467-471.

Oswelir GD. Toxicologia Veterinária. Porto Alegre: **Artes Médicas.** 1998 p. 536.

Palmer WA e Bay DE. Moisture content of the dung pat as a factor in the survival of larval stages of horn fly, *Haematobia irritans* (L). **Protecting Ecology**, Amsterdam, 1981. (3):4 299-309.

Pinto SB, Socool VT, Vendruscolo E, Rochadalli R, Ribeiro PB, Freitag A, Henemann C, Uemura M. Bioecologia de *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr., 1781) em Palotina, Paraná, Brasil. **Ciência Rural.** 2002 (32):5.

Pluciennik Z, Olszak RW e Tworowska U. Modern insecticides in controlling plum fruit moth (*Grapholita funebrana* Tr). **Prog. Plant Prot.** 1999 (9) 448-451.

Radostitis OM, Gay C, Hinchcliff K e Constbel p. **Veterinary medicine.** 9ª ed. London: WB, Saunders, 2000.

Reck J, Kaflek GM, Dall'agnol B, Scheffer R, Souza UA, Corassini VB. First report of Fluazuron resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: a tick population resistant to six classes of acaricides. **Vet Parasitol** 2014 (201)128-136.

Retnakaran A e Wright JE. Control of insect pests with benzoylphenylureas. In: Wright JE e Retnakaran A. **Chitin and Benzoylphenylureas.** W Junk, Boston, p. 205-282. 1987.

Rodrigues DS e Leite RC. Economic impact of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: estimate of decrease milk production on a dairy farm. **Arq. Bras. Med Vet Zootec.** 2013 (65):5 1570-1572.

Sakamoto CAM, Lopes WZ, Buzulini C, Cruz BC, Felippelli G, Lima RCA, et al. Anthelmintic efficacy of an oral formulation of Aurixazol against gastrointestinal nematodes of naturally and experimentally infected sheep. **Veter Parasitol.** 2013; (198):336-344.

Santos TR, Mendonça RP, Lopes WZ, Buzulini C, Cruz BC, Felippelli G, Teixeira WF. Atividade anti-ixodídica de uma nova formulação contendo Fluazuron

3,0% + Abamectina 0,5% em bovinos experimentalmente infestados por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **A hora veterinária**. 2010 (7) 18-21.

SAS Institute. The SAS system for window: version 6.12 (compact disc), Cary. NC, USA. Institute, 1996.

Sbragia RJ, Bisabri-Ershadi B, Rigterink RH, Clifford DP, Dutton R. XRD-473. A new acylurea insecticide effective against *Heliothis*. Proc. 10th Int. **Conqr. Plant Prot.** 1:417 (1983).

Schaefer CH, Muira T, Wilder WH, Mulligan FS. III New substituted benzamides with promising activity against mosquitoes. **J. Econ. Entomol.** 71:427 (1978).

Shidrawi GR. A WHO global programme for monitoring vector resistance to pesticides. Bull. **World Health Org.** 1990 (68) 403-408.

Silva RAMS, Seidl A, Ramirez L, Dávila AMR. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax* – Biologia, Diagnóstico e Controle. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA PAntanal. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2002.

Sparks TC, Quinsberry SS, Lockwood JA, Byford RL, Roush RT. Insecticide resistance in the horn fly, *Haematobia irritans*. **J. Agric. Entomol.** 1985 (2) 217-233.

Spindler K, Spindler-Barth M, Londershausen M. Chitin metabolism: a target for drugs against parasites. **Parasitol Research.** 1990. (76): 283-288.

Taylor MA. Recent developments in ectoparasiticides. **The Veterinary Journal.** 2001 (161):3 253-268.

Taylor MA, Coop RL e Wall. Ectoparasitas facultativos e vetores artrópodes. Em: Taylor MA, Coop RL e Wall. **Parasitologia Veterinária** 3ªed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 2010. P. 571-634.

Temeyer KB, Li YA, Lohmeyer KH, Chen AC, Olafson PU, Sanson DW, Foil LD. Acetylcholinesterase mutation in diazinon-resistant *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae). **Vet Parasitol.** 2008 (154) 300-310.

Van Eck WH. Mode of action of two benzoylphenylurea as inhibitors of chitin synthesis in insects. **Insect Biochemistry.** 1979 (9):295-300.

VICH- International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products. **Target animal safety for veterinary pharmaceutical products** – GL43, 2017.

Vital MABF e Acco A. Agonistas e antagonistas colinérgicos. Em: Spinosa HS, Górnaiak SL, Bernardi MM. **Farmacologia Aplicada a Veterinária** 4ªed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro – RJ. 2006 p67-80.

Walsh JF, Molyneux DH, Birley MH. Deforestation: effects in vector-borne diseases. **Cambridge University Press.** 1993. Online 2011. DOI <http://dx.doi.org/10.1017/50031182000086121>.

Willems AGM, Brouwer MS, Jongsma B. Benzoylaryl ureas insecticides: compounds interfering with chitin synthesis. Em: Muzzarelli R, Jeuniaux C, Gooday

GW. **Chitin in Nature and Technology**. Section III. Library of Congress in Publication Data (3rd 1985: Anaconda, Italy). Plenum Press, ova lorque, 1986. 131-138.

You M, Xuan X, Tsuji N, Kamio T, Suzuki N, Fujisaki K. Identification and molecular characterization of a chitinase form the hard tick *Haemaphysalis longicornis*. **J Biol Chem**. 2003 (278): 8556-8563.

Zumpt. Myiasis in a man and animals in the world. **Butherworths**, London 1965.